©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Über die Plasmapermeabilität einer Spirogyra in verschiedenen Entwicklungsstadien und zu verschiedener Jahreszeit

Von Ingeborg Lenk

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

Mit 1 Textabbildung und 1 Tafel

(Vorgelegt in der Sitzung am 8. Oktober 1953)

I. Einleitung.

Am 23. November 1952 sammelte ich an der Westseite der Alten Donau bei Wien, deren Wasser durch den Damm der Nordbahn vom Wasserpark (Floridsdorf) getrennt ist, in ungefähr 50 cm Tiefe nahe dem Grunde eine in größeren und kleineren Bauschen schwebende Spirogyra. Dieses Material, das ziemlich einheitlich aus einer Spirogyra[1], die wahrscheinlich zu *Spirogyra condensata* zu stellen ist, bestand, wies zwei Sorten von Zellen auf: lange Zellen und soeben geteilte kurze Zellen, die ungefähr die halben Längenmaße der langen Zellen aufwiesen. Alle Phasen von noch in Teilung befindlichen Zellen mit mehr oder weniger breiten, noch bestehenden Protoplastenverbindungen bis zum dünnen Plasmafaden, der durch eine Lücke in der Mitte der jungen, sukzedan gebildeten Zellwand die beiden Tochterprotoplasten zusammenhält, ganz zarte, dünne Membranen und dicke, völlig ausgebildete Zellwände traten ebenso auf wie alle Größenstadien von heranwachsenden Zellen.

An diesem Material sollte nun festgestellt werden, ob die Permeabilität der langen, im Streckungswachstum befindlichen

[1] Sie wurde bisher im Institut *Spirogyra „pseudogallica"* ad interim genannt und ist durch eine Zellbreite von 52 bis 54 μ, glatte Querwände, 3 bis 4 Chromatophorenumgänge und dichte Lagerung der Plastiden gekennzeichnet; sie wurde noch nie fruchtend gefunden; nach den von Transeau (1952) gegebenen Artdiagnosen dürfte es sich um *Spirogyra condensata* handeln. Mit der gleichen Alge hat im November 1952 Höfler (1953) gearbeitet.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

„alten" Zellen und der kurzen, eben erst geteilten „jungen" Zellen gleich sei oder einen Unterschied aufweise.

Weber (1930, 1933) hat erstmals Spirogyrazellen verschiedenen Entwicklungszustandes auf ihre Resistenz Harnstoff gegenüber untersucht. Er konnte zwei Zellsorten in seinem Material (wahrscheinlich *Spirogyra crassa*) unterscheiden, nämlich harnstoffresistente, „junge", erst vor kurzem geteilte Zellen und lange, herangewachsene, „alte" Zellen, die gegen die plötzliche Harnstoffplasmolyse nicht resistent waren und getötet wurden. Eine andere Untersuchungsreihe ergab, daß umgekehrt die gestreckten „alten" Zellen gegen 16—20% Methylalkohol resistent waren, die kurzen Zellen sich aber durch eine hohe Alkoholempfindlichkeit auszeichneten. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Zellsorten wird wohl durch Unterschiede der Intrabilität verursacht. Da der Harnstoff ein wasserlöslicher aber lipoidunlöslicher Stoff, der Alkohol ein Beispiel für einen lipoidlöslichen Stoff ist, müssen die Spirogyrazellen nach Weber „im Stadium des Streckungswachstums in erster Linie für lipoidunlösliche Stoffe, im Stadium des Teilungswachstums aber für lipoidlösliche Stoffe leicht permeabel sein".

Höfler (1951, 1952) konnte in einer jüngst angestellten Untersuchungsreihe ein interessantes Verhalten Natriumkarbonat gegenüber feststellen. Alle untersuchten Spirogyrafäden zeigten in 0,5 Na_2CO_3 das Bild „bunter Nekrose". Kurze, geteilte Zellen erwiesen sich als resistent, erwachsene „alte" Zellen wurden durch die Sodalösung getötet.

Diese Versuche bestätigen die Ergebnisse Webers, daß die jung geteilten Spirogyrazellen für lipoidunlösliche Stoffe eine erhöhte Resistenz und verminderte Neigung zur Intrabilitätserhöhung zeigen.

Höfler (1952) sieht das Plasma als eine von der Außen- bis an die Innenoberfläche reichende, zusammenhängende Phase mit lipoiden Lösungseigenschaften an; lipoidlösliche Stoffe permeieren, indem sie sich außen lösen und den Lipoidweg bis an die Vakuole benützen, um dort entsprechend dem Verteilungskoeffizienten in den wässerigen Zellsaft überzutreten. Da die Neubildung des durch Plasmolyse zerstörten Plasmalemmas bei Spirogyra nur bei Vorhandensein von Kalzium vor sich gehen kann (Weber 1932, 1933), Plasmolyse in Sodalösung aber das Ca entfernt, kann keine Restitution des Plasmalemmas erfolgen, wodurch die Überschwemmung des Binnenplasmas durch die Sodalösung erklärbar wird.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

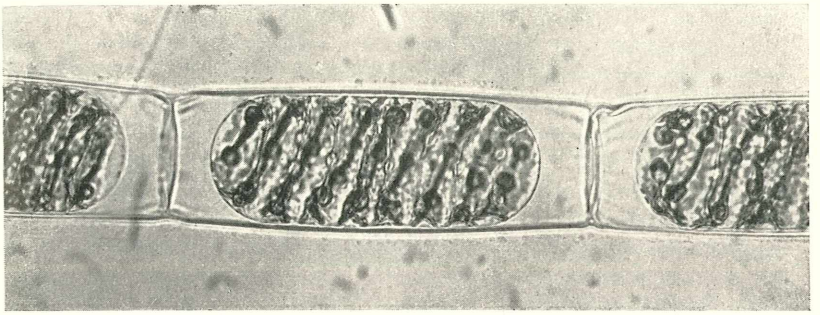

Fig. 1. *Spirogyra condensata* in 0,8 mol Traubenzucker plasmolysiert (November 1952).

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Diesen Resistenzunterschieden der Zellen verschiedener Entwicklungsstadien liegen ebenfalls Unterschiede der Intrabilität zugrunde, indem gestreckte Spirogyrazellen hohe Intrabilität, also geringe Resistenz, kürzlich geteilte Zellen eine erhöhte Resistenz und geringe Neigung zur Intrabilitätserhöhung aufweisen.

Das Ziel dieser Untersuchungsreihe ist, die Änderungen der Intrabilität mit dem Wandel der Permeabilität in den bezeichneten Entwicklungsstadien zu vergleichen.

Ganz unabhängig von diesen Untersuchungen sind die in der Literatur vorliegenden Angaben über den Permeabilitätswandel ungleich entwickelter Zellen. Darüber liegen Beobachtungen von Marklund (1936) an Blättern von *Taraxacum pectinatiforme* und *Elodea densa* vor, an denen eine größere Durchlässigkeit für Harnstoff an jungen Blättern, eine langsamere Harnstoffpermeation an älteren und ganz jungen Blättern festgestellt wurde. Untersuchungen Ruges (1943) an verschieden alten Zellen des *Rhoeo*blattes bestätigen die gesetzmäßigen Änderungen der spezifischen Permeabilitätsreihen entsprechend dem Entwicklungszustand der Zellen. Weber (1931) stellte Unterschiede in der Harnstoffdurchlässigkeit unentwickelter, noch nicht funktionierender und erwachsener, normal funktionierender Schließzellen von *Ranunculus ficaria* fest.

Als ich mein Material für Permeabilitätsmessungen geeignet fand, setzte ich mir als zweites Ziel, den jahreszeitlichen Wandel der Permeabilität zu untersuchen. Dabei war darauf zu achten, ob Änderungen der Porenpermeabilität wie in den Arbeiten Marklunds oder der Wechsel von Glyzerin- und Harnstoffpermeabilität, wie ihn die Untersuchungen Hofmeisters (1938) ergaben, festzustellen seien.

II. Methodik.

Da meine Spirogyrazellen sich ihrer idealen zylindrischen Zellform wegen ausgezeichnet zu plasmometrischen Messungen (Taf. 1, Fig. 1) eignen und von Anfang an regelmäßige, gut gerundete, konvexe Plasmolyseformen auftreten, sind genaue Messungen der Wasserpermeabilität möglich; doch gehe ich im Rahmen dieser Mitteilung auf diese Versuche nicht ein. Die glatte, tadellose Rundung ist nicht unbedingt für das Material charakteristisch, sondern geht auf meine Methode zurück, die eine Herabsetzung der Viskosität und eine leichte Abhebung von den Zellwänden mit sofort erfolgender Rundung der Plasmamenisken durch kurze Erwärmung des Materials im temperierten Raum auf eine für die

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Alge recht hohe Temperatur herbeiführt (Weber 1924, 1925, 1932).

Im Gegensatz zu Weber, der mit der sehr stark hypertonen 2,0 molaren Harnstofflösung Resistenzuntersuchungen durchführte, arbeitete ich mit nur schwach hypertonen, die Zellen schonenden Lösungen (0,5—0,7 mol), wodurch ein Großteil der Zellen nach erfolgter Deplasmolyse noch am Leben war und bei probeweise durchgeführter Einlage in Traubenzucker schöne Konvexplasmolysen zeigte. Die Lösungen wurden mit Ausnahme der Methylharnstoff- und Malonamidlösungen mit Standortswasser hergestellt.

Es mußten in dieser Arbeit außer den Δ G-Werten (d. i. der auf die Zeiteinheit einer Stunde bezogene Wert der Änderung des Plasmolysegrades) der einzelnen Zellen und Versuche infolge der ungleichen Länge der Zellen, die zum Teil so breit als lang, zum Teil 2- bis 3mal so lang als breit waren und daher verschiedene relative Verhältnisse von Protoplastenoberflächen zu Protoplasten-Volumina aufwiesen, auch die Permeationskonstante des Protoplasten P′ und P (vgl. Collander und Bärlund, 1932) berechnet werden.

$$P' = \frac{M}{C - c}$$

wobei M der Stundenwert der Stoffaufnahme, C die Konzentration der Lösung im Plasmolytikum und c ihre Partialkonzentration im Zellsaft bedeutet.

Da die stündliche Plasmolysegradänderung $\Delta G = \frac{M}{C}$ ist, ist

$$P' = \frac{\Delta G}{1 - \Delta G \quad t} = \frac{\Delta G}{1 - c_1}$$

(Höfler 1934, Hofmeister 1935, Marklund 1936).

Für die weiteren Intervalle wird die Partialkonzentration c_2 aus c_1 und dem Plasmolysegrad der vorhergehenden und der folgenden Messung errechnet.

$$c_2 = c_1 + \frac{G_3 - G_1}{2}; \quad P'_{2-3} = \frac{\Delta G_{1-3}}{1 - c_2}.$$

Nach der Berechnung der Permeationskonstanten P′ kann die Reduktion dieser auf die Protoplasten-Oberflächeneinheit erfolgen (P). Die Berechnung ergibt sich aus $P = \frac{v}{o} P'$, wobei v das Volumen und o die Oberfläche des Protoplasten bedeuten. Daraus ergibt sich

$$P = \frac{(l - \frac{2}{3} r)\, r}{2 l} P',$$

wobei l die Länge des Protoplasten und r der Radius des Protoplasten in μ ausgedrückt ist (vgl. Höfler 1934, S. 234). Ein Okularmikrometerstrich = 4,8 μ.

An den am 23. November 1952 gesammelten *Spirogyra condensata*-Material wurde zunächst der osmotische Wert bestimmt. Das ganz frische, eben erst gesammelte Material zeigte annähernd gleichen osmotischen Wert beider Zelltypen; er betrug zwischen 0,30 und 0,35 mol Traubenzucker.

Die Permeabilitätsversuche wurden vor allem mit 0,5 und 0,6 mol Harnstoff-, Glyzerin- und Methylharnstofflösungen im temperierten Zimmer ausgeführt. Das Fläschchen mit dem Versuchsmaterial wurde jeweils 10 bis 20 Minuten vor der Ausführung des Versuches in das warme Zimmer gestellt; Zimmer- und Wassertemperaturen sind bei allen Versuchen genau angegeben. Die Permeabilitätswerte der langen und kurzen Zellen sind streng miteinander vergleichbar, da solche Fäden für die Untersuchung gewählt wurden, in denen lange Zellen mit kurzen Zellen abwechselten, so daß innerhalb jedes Versuches beide Zellsorten beobachtet und gemessen werden konnten.

III. Versuche.

Mit Ausnahme von drei Versuchen, von denen die Originalprotokolle wiedergegeben werden, begnüge ich mich aus Raumgründen mit der Darstellung der Versuche in gekürzter Form, wobei

die Versuchsnummer aus meinen Protokollen (**Nr.**),

die Versuchszeit (**Vz**),

die Konzentration des Plasmolytikums (**C**),

die Dauer der Plasmolyse bis zur ersten Messung (**Pl**),

die Nummer der Messungen (**M**),

die Dauer der einzelnen Intervalle (**t**),

die Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde (Δ G) als Mittelwert aller gemessenen Zellen des entsprechenden Intervalls,

die Zahl der bei dem entsprechenden Versuch gemessenen Zellen (**n**),

der mittlere Δ G-Wert aller Messungen und Zellen des Versuches

und die Permeationskonstante **P′** angegeben werden.

Harnstoffversuche.

Es soll nun ein vollständiger Harnstoffversuch wiedergegeben werden, dem die Ergebnisse der anderen Versuche folgen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch 4.

Spirogyra condensata in **0,5 mol Harnstoff** um $13^h 10'$ eingelegt.

Lange Zellen

Zelle	h	1. Messung $13^h 20'$—$27'$		2. Messung $13^h 30'$—$37'$		3. Messung $13^h 40'$—$47'$	
		l_1	G_1	$l_2—l_1$	$G_2—G_1$	$l_3—l_2$	$G_3—G_2$
1	30,5	26,3	0,746	1,1	0,035	0,7	0,022
2	36,0	26,7	0,650	1,2	0,028	1,4	0,035
3	35,0	25,1	0,613	1,7	0,049	1,5	0,046
4	37,0	28,8	0,681	1,3	0,036	1,6	0,043
5	36,0	27,2	0,658	1,7	0,064	1,4	0,039
		G_1 (Mittel)	0,669	$G_2—G_1$	0,042	$G_3—G_2$	0,037
				$\Delta G_{1—2}$	0,234	$\Delta G_{2—3}$	0,228
				$P'_{1—2}$	0,274	$P'_{2—3}$	0,229
				$10^{-4} . P_{1—2}$	3,151	$P_{2—3}$	3,435
			Gesamtmittel	$\Delta G_{1—6}$	0,182	$P'_{1—6} =$	0,217

Kurze Zellen

Zelle	h	l_1	G_1	$l_1—l_2$	$G_2—G_1$	$l_3—l_2$	$G_3—G_2$
1	18,5	15,2	0,628	1,5	0,081	1,1	0,060
2	15,0	14,2	0,708	0,6	0,040	0,2	0,012
3	18,5	15,0	0,618	1,2	0,063	1,2	0,068
4	19,5	16,6	0,668	0,9	0,044	1,2	0,064
5	18,0	15,9	0,685	0,9	0,047	0,6	0,036
6	17,5	15,6	0,688	0,6	0,032	0,7	0,040
		G_1 (Mittel)	0,666	$G_2—G_1$	0,051	$G_3—G_2$	0,046
				$\Delta G_{1—2}$	0,311	$\Delta G_{2—3}$	0,295
				$P'_{1—2}$	0,344	$P'_{2—3}$	0,345
				$10^{-4} . P_{1—2}$	3,474	$P_{2—3}$	3,519
			Gesamtmittel	$\Delta G_{1—4}$	0,218	$P'_{1—4} =$	0,256

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

27. XI. 1952.

Lufttemperatur = 20,5° C, Wassertemperatur = 17° C.

(im Streckungswachstum) b = 11

4. Messung 14h 00′—07′		5. Messung 14h 20′—27′		6. Messung 14h 40′—47′		
$l_4—l_3$	$G_4—G_3$	$l_5—l_4$	$G_5—G_4$	$l_6—l_5$	$G_6—G_5$	G_6
0,8	0,027	0,8	0,029	0,8	0,022	0,881
2,9	0,085	1,9	0,050	1,9	0,052	0,900
2,4	0,070	1,9	0,052	2,4	0,068	0,898
1,7	0,047	1,5	0,041	2,1	0,052	0,901
1,8	0,051	1,6	0,046	2,3	0,062	0,900
$G_4—G_3$	0,056	$G_5—G_4$	0,043	$G_6—G_5$	0,051	
$\Delta G_{3—4}$	0,157	$\Delta G_{4—5}$	0,127	$\Delta G_{5—6}$	0,172	
$P'_{3—4}$	0,187	$P'_{4—5}$	0,160	$P'_{5—6}$	0,234	
$P_{3—4}$	2,169	$P_{4—5}$	1,376	$P_{5—6}$	2,761	

$P_{1—6} \cdot 10^{-4} = 2,435$

(im Teilungswachstum) b = 11

$l_4—l_3$	$G_4—G_3$	G_4
0,7	0,039	0,808
—	—	—
1,1	0,060	0,809
0,8	0,042	0,818
0,6	0,032	0,800
0,6	0,036	0,796
$G_4—G_3$	0,042	
$\Delta G_{3—4}$	0,140	
$P'_{3—4}$	0,173	
$P_{3—4}$	1,799	

$P_{1—4} \cdot 10^{-4} = 2,628$

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Spirogyra condensata. Harnstoffversuche.

Lufttemperatur = 20—21° C, Wassertemperatur = 17° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	ΔG	P'
1.	24. XI., 14h 50'	0,6	10'	1—2	5'	0,240	9		
	Lange Zellen			2—3	25'	0,213			
				3—4	20'	0,207			
				4—5	20'	0,102		0,190	0,211
	Bei der 4. Messung 3 Zellen bereits deplasmolysiert.								
	Kurze Zellen			1—2	5'	0,564	2		
				2—3	25'	0,252		0,408	0,468
2.	25. XI., 15h 55'	0,5	20'	1—2	10'	0,262	4		
	Lange Zellen			2—3	20'	0,193			
				3—4	30'	0,148		0,201	0,233
3.	27. XI., 10h 30'	0,5	8'	1—2	20'	0,128	6		
	Lange Zellen			2—3	10'	0,103			
				3—4	10'	0,209			
				4—5	10'	0,115			
				5—6	10'	0,116			
				6—7	22'	0,093			
				7—8	20'	0,093		0,122	0,137
	Kurze Zellen			1—2	20'	0,197	10		
				2—3	10'	0,141			
				3—4	10'	0,121		0,153	0,168
	6 Zellen während der 3. Messung deplasmolysiert.								
5.	28. XI., 12h 17'	0,6	5'	1—2	5'	0,423	5		
	Lange Zellen			2—3	5'	0,222			
				3—4	10'	0,142			
				4—5	10'	0,130			
				5—6	5'	0,282			
				6—7	10'	0,264			
				7—8	10'	0,187			
				8—9	20'	0,153		0,225	0,267
	Kurze Zellen			1—2	5'	0,558	3		
				2—3	5'	0,270			
				3—4	10'	0,144			
				4—5	10'	0,234			
				5—6	5'	0,228			
				6—7	10'	0,216		0,275	0,333

Die Protoplasten der kurzen Zellen runden sich gleich nach der Einlage in das Plasmolytikum, während sich die der erwachsenen Zellen zunächst unregelmäßig abheben und erst nach 3 bis 4 Minuten schöne Konvexplasmolysen zeigen.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	ΔG	n	ΔG	P′
6.	1. XII., 10h 50′	0,5		1—2	15′	0,264	6		
	Lange Zellen			2—3	5′	0,252			
				3—4	5′	0,309			
				4—5	5′	0,216		0,260	0,252
	Kurze Zellen			1—2	15′	0,376	2		
				2—3	5′	0,394		0,385	0,486
7.	1. XII., 12h 17′	0,5	10′	1—2	5′	0,328	3		
	Lange Zellen			2—3	10′	0,224			
				3—4	10′	0,164			
				4—5	10′	0,240		0,239	0,241
	Kurze Zellen			1—2	5′	0,498	2		
				2—3	10′	0,420		0,459	0.548
8.	1. XII., 13h 15′	0,6	10′	1—2	10′	0,269	6		
	Lange Zellen			2—3	10′	0,210			
				3—4	10′	0,198		0,226	0,262
	Kurze Zellen			1—2	10′	0,396	6		
				2—3	10′	0,300		0,348	0,400
	Bei der 2. Messung 3 Zellen deplasmolysiert.								
16.	5. XII., 13h 00′	0,6	10′	1—2	10′	0,238	5		
	Lange Zellen			2—3	10′	0,213			
				3—4	10′	0,170			
				4—5	10′	0,225			
				5—6	10′	0,222			
				6—7	20′	0,103			
				7—8	20′	0,113		0,183	0,220
	Kurze Zellen			1—2	10′	0,230	11		
				2—3	10′	0,242			
				3—4	10′	0,206			
				4—5	10′	0,164			
				5—6	10′	0,125		0,193	0,221
	Zur Zeit der 5. Messung 3 Zellen deplasmolysiert.								

Eine knappe Übersicht soll die Ergebnisse der Harnstoffversuche zusammenfassen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Harnstoff-Permeabilität von *Spirogyra condensata.*

	Lange (gestreckte) Zellen				Kurze (geteilte) Zellen			
Nr.	Depl.-Zeit	Δ G	P′	P . 10^{-4}	Depl.-Zeit	Δ G	P′	P . 10^{-4}
1.*)	80′	0,190	0,211	2,0258	40′	0,408	0,468	4,490
2.	80′	0,201	0,233	2,7375				
3.	110′	0,122	0,137	1,5403	40′—48′	0,153	0,168	1,657
4.	90′	0,182	0,217	2,4350	70′	0,218	0,256	2,628
5.	80′	0,225	0,267	2,9042	40′—50′	0,275	0,333	3,102
6.*)	35′	0,260	0,252	2,8640	25′	0,385	0,186	4,816
7.*)	45′	0,239	0,241	2,6064	25′	0,459	0,548	4,907
8.*)	40′	0,226	0,262	2,7878	20′—30′	0,348	0,400	3,417
16.	100′	0,183	0,220	2,2831	50′—60′	0,193	0,221	2,325

Aus diesen Versuchen geht eine kürzere Deplasmolysezeit und ein höherer Δ G-Wert der kurzen, frisch geteilten Zellen an frisch gesammeltem Material (vgl. die Versuche, 1, 6, 7, 8) hervor. Das Verhältnis der Δ G-Werte der kurzen und langen Zellen beträgt:

1. lange Zellen : kurzen Zellen = 1 : 2,14
6. = 1 : 1,48
7. = 1 : 1,92
8. „ = 1 : 1,54
Mittel = 1 : 1,77

3. lange Zellen : kurzen Zellen = 1 : 1,25
4. = 1 : 1,20
5. = 1 : 1,20
16. „ = 1 : 1,06
Mittel = 1 : 1,18

Dieser beträchtliche Unterschied der Δ G-Werte nimmt bei länger kultiviertem Material ab (vgl. Versuch 3, 4, 5, 16).

Interessant sind die Ergebnisse, die durch die Reduktion der Permeationskonstanten auf die Oberflächeneinheit erzielt werden konnten. An frischem Material, das Unterschiede der Δ G-Werte und der Deplasmolysezeiten aufweist, zeigen auch die P-Werte Unterschiede. Die Durchlässigkeit der Protoplasten der kurzen und langen gestreckten Zellen ist also in diesem Falle nicht gleich groß. Kultiviertes Material mit abnehmenden Unterschieden der Δ G-Werte zeigt auch eine annähernd gleich große Durchlässigkeit der Protoplastenoberflächen.

*) Versuche an frisch gesammeltem Material.

Die Mittelwerte betragen für

gestreckte Zellen			geteilte Zellen		
Δ G	P'	P	Δ	G P'	P
0,203	**0,226**	**2,465.10^{-4}**	**0,305**	**0,360**	**2,856.10^{-4}**

Das längere Zeit in Kultur befindliche Material scheint durch die völlig anderen Lebensbedingungen, die auch bei sorgfältigster Kultur denen des auch in stehendem, aber doch leicht bewegtem Wasser und in dauerndem Wasseraustausch und reichlicher Luft- und Lichtzufuhr befindlichen Materials nicht entsprechen können, andere Voraussetzungen für die Untersuchungen zu haben. Vielleicht sind es die Einflüsse des Lichtes, das auf das im freien Wasser schwebende Material sicherlich anders einwirkt als auf das in einem Fenster auch an der hellsten Stelle aufbewahrte Glas, vielleicht sind es chemische Veränderungen der Wasserzusammensetzung, die infolge fehlender Wassererneuerung und einseitigem Verbrauch von Stoffen eintreten.

Glyzerinversuche.

Daß dieses allmähliche Zurücktreten des Unterschiedes in der Permeabilität beider Zellsorten nicht etwa auf einer Schädigung durch Harnstoff zurückzuführen ist, beweisen die folgenden Versuche in Glyzerin, die im wesentlichen ähnliche Ergebnisse zeitigten.

Spirogyra condensata. Glyzerinversuche.

Lufttemperatur = 19—20° C, Wassertemperatur = 13—14° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G	P'
9.	1. XII., 14h 25'	0,5	5'	1—2	5'	0,300	6		
	Lange Zellen			2—3	10'	0,266			
				3—4	20'	0,192		0,253	0,270
	Kurze Zellen			1—2	5'	0,417	4	0,417	0,445
11.	4. XII., 15h 40'	0,6	20'	1—2	10'	0,182	3		
	Lange Zellen			2—3	10'	0,221			
				3—4	10'	0,256			
				4—5	20'	0,202			
				5—6	20'	0,180			
				6—7	30'	0,142		0,198	0,243
	Kurze Zellen			1—2	10'	0,235	6		
				2—3	10'	0,270			
				3—4	10'	0,238		0,247	0,307

4 Zellen während der 3. Messung deplasmolysiert.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch 10.

Spirogyra condensata in **0,5 mol Glyzerin** um $17^h 30'$ eingelegt.

Lange Zellen

Zelle	h	1. Messung $17^h 40'$—$43'$		2. Messung $17^h 45'$—$48'$		3. Messung $17^h 50'$—$53'$	
		l_1	G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3-G_2
1	22,5	15,9	0,548	0,9	0,040	0,3	0,012
2	22,5	15,9	0,549	0,5	0,021	0,5	0,022
3	21,0	16,0	0,590	0,8	0,039	0,3	0,014
4	23,0	15,9	0,536	0,5	0,022	0,6	0,024
5	24,5	16,7	0,536	0,9	0,035	0,3	0,013
		G_1 (Mittel)	0,552	G_2-G_1	0,031	G_3-G_2	0,017
				ΔG_{1-2}	0,377	ΔG_{2-3}	0,204
				P'_{1-2}	0,413	P'_{2-3}	0,126
				$10^{-4} . P_{1-2}$	4,171	P_{2-3}	1,260
			Gesamtmittel	ΔG_{1-7} =	0,224	P'_{1-7} =	0,273

Kurze Zellen

Zelle	h	l_1	G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3-G_2
1	12,0	9,8	0,518	0,6	0,048	0,6	0,050
2	12,0	10,6	0,582	0,3	0,027	0,4	0,033
3	12,5	9,9	0,504	0,8	0,064	0,3	0,024
4	12,0	10,3	0,560	0,3	0,024	0,3	0,025
5	13,0	10,2	0,509	0,4	0,030	0,2	0,009
6	11,0	10,0	0,581	0,5	0,047	0,4	0,036
		G_1 (Mittel)	0,542	G_2-G_1	0,040	G_3-G_2	0,029
				ΔG_{1-2}	0,484	ΔG_{2-3}	0,354
				P'_{1-2}	0,554	P'_{2-3}	0,422
				$10^{-4} . P_{1-2}$	4,653	P_{2-3}	3,165
			Gesamtmittel	ΔG_{1-6} =	0,298	P'_{1-6} =	0,335

3. XII. 1952.

Lufttemperatur = 20° C, Wassertemperatur = 15° C.

(im Streckungswachstum) b = 11

4. Messung 18h 00′–03′		5. Messung 18h 15′–18′		6. Messung 18h 35′–38′		7. Messung 18h 55′–58′		
l_4-l_3	G_4-G_3	l_5-l_4	G_5-G_4	l_6-l_5	G_6-G_5	l_7-l_6	G_7-G_6	G_7
0,7	0,031	1,1	0,049	1,8	0,080	1,8	0,080	0,840
0,4	0,018	0,6	0,028	1,8	0,071	2,8	0,131	0,840
0,6	0,028	0,7	0,035	0,8	0,039	1,8	0,084	0,829
0,9	0,039	1,5	0,067	1,7	0,101	1,3	0,055	0,849
0,4	0,016	0,6	0,025	1,8	0,074	1,8	0,072	0,771
G_4-G_3	0,026	G_5-G_4	0,041	G_6-G_5	0,073	G_7-G_6	0,084	
ΔG_{3-4}	0,158	ΔG_{4-5}	0,163	ΔG_{5-6}	0,218	ΔG_{6-7}	0,254	
P'_{3-4}	0,196	P'_{4-5}	0,272	P'_{5-6}	0,358			
P_{3-4}	1,885	P_{4-5}	2,038	P'_{5-6}	2,908			

$P_{1-7} \cdot 10^{-4} = 2{,}548$

(im Teilungswachstum) b = 11

l_4-l_3	G_4-G_3	l_5-l_4	G_5-G_4	l_6-l_5	G_6-G_5	G_5	G_6
0,6	0,050	0,4	0,032	—	—	0,700	—
0,4	0,033	0,3	0,025	—	—	0,700	—
0,7	0,057	0,4	0,031	0,4	0,032	0,680	0,712
0,5	0,041	0,6	0,050	—	—	0,700	—
0,4	0,039	0,9	0,067	0,9	0,069	0,651	0,723
0,1	0,008	—	—	—	—	—	—
G_4-G_3	0,380	G_5-G_4	0,041	G_6-G_5	0,051		
ΔG_{3-4}	0,228	ΔG_{4-5}	0,164	ΔG_{6-6}	0,156		
P'_{3-}	0,283	P'_{4-5}	0,213	P'_{5-6}	0,206		
P_{3-}	2,490	P_{4-5}	1,917	P_{5-6}	1,854		

$P_{1-6} \cdot 10^{-4} = 2{,}816$

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Spirogyra condensata. Glyzerinversuche.

Lufttemperatur = 19—20° C, Wassertemperatur = 13—14° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G	P'
15.	27. XI., 12h 35′	0,5	10′	1—2	20′	0,305	2		
	Lange Zellen			2—3	10′	0,234			
				3—4	10′	0,230			
				4 5	10′	0,218			
				5—6	10′	0,123		0,222	0,300
	Kurze Zellen			1—2	20′	0,384	5		
				2—3	10′	0,303			
				3—4	10′	0,332		0,339	0,362
19.	12. XII., 14h 50′	0,5	10′	1—2	15′	0,195	5		
	Lange Zellen			2—3	25′	0,148			
				3—4	30′	0,124			
				4—5	20′	0,178			
				5—6	30′	0,111		0,151	0,185
	Kurze Zellen			1—2	15′	0,296	4		
				2—3	25′	0,157			
				3—4	30′	0,101		0,184	0,213

Glyzerin-Permeabilität von *Spirogyra condensata.*

	Lange (gestreckte) Zellen				Kurze (geteilte) Zellen			
Nr.	Depl.-Zeit	Δ G	P'	P . 10^{-4}	Depl.-Zeit	Δ G	P'	P . 10^{-4}
9.*)	40′	0,253	0,270	2,646	10′	0,417	0,445	3,782
10.*)	85′	0,222	0,273	2,548	65′	0,276	0,335	2,816
11.	90—120′	0,198	0,243	2,618	50′	0,247	0,307	2,743
15.	70′	0,222	0,300	3,844	50′	0,339	0,362	4,026
19.	130′	0,151	0,185	1,889	75—80′	0,184	0,213	1,940

Auch bei Glyzerin steht eine kurze Deplasmolysezeit und ein höherer Δ G-Wert der im Teilungswachstum begriffenen, frisch gesammelten Zellen den gestreckten Zellen gegenüber. Das Verhältnis der Δ G-Werte der langen und kurzen Zellen beträgt:

9.*) lange Zellen : kurzen Zellen = 1 : 1,64
10.*) = 1 : 1.24
11. = 1 : 1,30
15. = 1 : 1,52
19. = 1 : 1,21

*) Versuche an frisch gesammeltem Material.

Die auf die Oberflächeneinheit reduzierten Permeabilitätswerte zeigen bei kurzen und langen Zellen gleiche Größenordnung. Der Durchtritt der Stoffe durch die Protoplastenoberflächeneinheit ist bei kurzen und langen Zellen also gleich. Da mit Ausnahme der beiden ersten Versuche (9 und 10) mit kultiviertem Material gearbeitet wurde und diese beiden Versuche auch eine geringe Differenz der reduzierten Permeationswerte aufweisen, stimmt dieses Ergebnis mit den an Harnstoff festgestellten in bezug auf die Unterschiede zwischen frischem und kultiviertem Material überein.

Ein Vergleich der Harnstoff- und Glyzerinwerte zeigt, daß die Wegsamkeit der Spirogyrazellen für beide Plasmolytika zu jener Jahreszeit ungefähr gleich gut war.

Spirogyra condensata. Methylharnstoffversuche.

Lufttemperatur = 18—19° C, Wassertemperatur = 11—12° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G	P'
14.	9. XII., 11h 15'	0,6	3'	1—2	5'	0,496	3		
	Lange Zellen			2—3	2'	1,500			
				3—4	3'	1,113			
				4—5	3'	1,086			
				5—6	4'	0,944			
				6—7	3'	0,793		0,988	1,206
	Kurze Zellen			1—2	5'	1,026	2		
				2—3	2'	2,145			
				3—4	3'	1,100		1,424	1,759

Zur Zeit der ersten Messung ist der Plasmolyse-Endgrad noch nicht erreicht, daher ist ΔG_{1-2} zu niedrig ausgefallen.

22.	13. XII., 11h 30'	0,6	4'	1—2	3'	0,630	4		
	Lange Zellen			2—3	3'	0,640			
				3—4	3'	0,660			
				4—5	2'	0,530			
				5 6	2'	0,892			
				6—7	2'	0.745			
				7—8	3'	0,570			
				8—9	3'	0,495			
				9—10	3'	0.600			
				10—11	3'	0,466			
				11—12	3'	0,550		0,616	0,748
	Kurze Zellen			1—2	3'	0,650	4		
				2—3	3'	0,990			
				2—4	3'	0,820			
				4—5	2'	0,940		0,850	0,964

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch 13.

Spirogyra condensata in **0,6 mol Methylharnstoff** um $10^h 20'$ eingelegt.

Lange Zellen

Zelle	h	1. Messung $10^h 25'-28'$		2. Messung $10^h 30'-33'$		3. Messung $10^h 35'-38'$		4. Messung $10^h 45'-47'$	
		l_1	G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3-G_2	l_4-l_3	G_4-G_3
1	29,0	20,1	0,602	1,0	0,036	3,7	0,125	3,2	0,113
2	29,5	20,2	0,562	2,1	0,071	3,8	0,129	3,4	0,116
3	21,0	21,2	0,569	1,9	0,061	3,8	0,121	4,1	0,132
4	29,5	21,3	0,600	1,7	0,059	4.8	0,161	1,7	0,058
5	31,5	21,1	0,557	2,1	0,084	5,0	0,160	3,7	0,104
6	32,0	21,1	0,516	1,8	0,056	4,3	0,136	5,8	0,180
	G_1 (Mittel)		0,567	G_2-G_1	0,061	G_3-G_2	0,139	G_4-G_3	0,117
				ΔG_{1-2}	0,694	ΔG_{2-3}	1,664	ΔG_{3-4}	0,703
				P'_{1-2}	0,104	P'_{2-3}	2,085	P'_{3-4}	1,049
			10^{-4}.	P_{1-2}	7,243	P_{2-3}	13,039	P_{3-4}	11,958
	Gesamtmittel			$\Delta G_{1-4} =$	1,020	P'_{1-4}	1,079	P_{1-4}. 10^{-4}	=10,747

Kurze Zellen

Zelle	h	1. Messung $10^h 25'-28'$		2. Messung $10^h 27'-29'$		3. Messung $10^h 30'-32'$		4. Messung $10^h 32'-34'$	
		l_1	G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3-G_2	l_4-l_3	G_3-G_4
1	19,0	15,1	0.607	0,8	0,042	0,9	0,045	0,3	0,017
2	19,5	14,0	0,503	1,9	0,128	0,6	0,030	1,2	0,061
3	19,0	14,1	0,552	0,8	0,042	0,4	0,023	1,3	0,067
4	18,5	13,3	0,523	0,9	0,050	0,7	0,038	1,4	0,077
	G_1 (Mittel)		0,546	G_2-G_1	0,065	G_3-G_2	0,034	G_4-G_3	0,055
				ΔG_{1-2}	1,740	ΔG_{2-3}	0,680	ΔG_{3-4}	1,650
				P'_{1-2}	2,135	P'_{2-3}	0,861	P'_{3-4}	2,302
			10^{-4}.	P_{1-2}	20,709	P_{2-3}	8,437	P_{3-4}	23,250
	Gesamtmittel			$\Delta G_{1-7} =$	1,336	$P'_{1-7} =$	1,814	P_{1-7}. 10^{-4}	=19,356

6. XII. 1953.

Lufttemperatur = 19,5 ° C, Wassertemperatur = 12 ° C.

(im Streckungswachstum) b = 11

G_4
0,876
0,878
0,883
0,878
0,885
0,888

(im Teilungswachstum)

5. Messung 10h 35′—37′		6. Messung 10h 37′—38′		7. Messung 10h 40′—41′			
$l_5 - l_4$	$G_5 - G_4$	$l_6 - l_5$	$G_6 - G_5$	$l_7 - l_6$	$G_7 - G_6$	G_6	G_7
1,1	0,058	0,8	0,042	—	—	0,811	—
0,7	0,038	1,1	0,058	—	—	0,818	—
0,7	0,036	1,0	0,052	0,7	0,811	0,772	0,811
2,2	0,120	—	—	—	—	—	—
$G_5 - G_4$	0,063	$G_6 - G_5$	0,051	$G_7 - G_6$	0,800		
ΔG_{4-5}	1,285	ΔG_{5-6}	1,520				
P'_{4-5}	1,944	P'_{5-6}	2,320				
P_{4-5}	20,023	P_{5-6}	24,360				

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Auch bei Verwendung von Methylharnstoff als Diosmotikum liegen die Permeationswerte in ungefähr der gleichen Größenordnung; die Untersuchungen wurden allerdings nur mit kultiviertem Material angestellt. Das Verhältnis der ΔG-Werte beträgt:

13. lange Zellen : kurzen Zellen = 1 : 1,35
14. = 1 : 1,44
22. = 1 : 1,37

Die Mittelwerte aller Versuche sollen nochmals zusammengefaßt und als Ergebnis der Versuche an herbstlichen *Spirogyra condensata*-Zellen folgendes Verhältnis der Werte der drei verwendeten Plasmolytika festgehalten werden:

	Gestreckte Zellen			Geteilte Zellen		
	Harnstoff	Glyzerin	Methylharnstoff	Harnstoff	Glyzerin	Methylharnstoff
Δ G	0,203	0,209	0,874	0,305	0,293	1,217
P'	0,226	0,254	1,011	0,360	0,392	1,512
P . 10^{-4}	2,464	2,433	11,421	2,856	2,730	15,429

Methylharnstoff : Harnstoff : Glyzerin = 4,1 : 1 : 1,0 (Δ G) (Gestreckte Zellen)
= 4,0 : 1 : 0,96 (Δ G) (Geteilte Zellen)

Diese Messungen zeigen, daß im Teilungs- und im Streckungswachstum befindliche Spirogyrazellen in ähnlichem Maße für Anelektrolyte permeabel sind. Nur wenige, an frisch gesammeltem Material durchgeführte Versuche ergaben eine etwas größere Durchlässigkeit der kurzen Zellen gegenüber den erwachsenen Zellen. Das aufgestellte Verhältnis der drei verwendeten Plasmolytika zeigt, daß *Spirogyra condensata* im Herbst einen eindeutigen Glyzerintyp aufweist.

Diese Resultate, die also keine größeren Unterschiede der Permeabilität ungleich entwickelter Spirogyrazellen aufweisen, stehen keineswegs im Widerspruch zu den Untersuchungen Webers (1930), da diese Resistenzuntersuchungen in stark hypertonen Lösungen nachwiesen und ich auch an meinem Material bei Einlage in eine 2,0-mol-Harnstofflösung die Beobachtungen Webers bestätigt finden konnte. Nach ganz geringer, meist unregelmäßiger Abhebung des Protoplasten der langen Zellen verquellen bereits 30 bis 40 Sekunden nach der Einlage in die Harnstofflösung die Chloroplastenbänder, das Plasma bekommt ein granuläres Aussehen und erfüllt den gesamten Zellraum, während die kurzen Zellen sich runden und starke Plasmolysegrade aufweisen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ich möchte an dieser Stelle darauf hinweisen, daß de Vries (1889) darauf aufmerksam machte, daß Harnstofflösungen für Spirogyren giftig seien. Doch alle meine Versuche zeigen, daß eine mit mäßig hypertonen Lösungen vorsichtig durchgeführte Harnstoffplasmolyse in den meisten Fällen von den Spirogyrazellen gut vertragen wird. (Vgl. auch Lepeschkin 1909, Prát 1922.)

Bei der Einlage einiger Spirogyrafäden in ein schwach hypertones Plasmolytikum erfolgt eine sofortige Rundung der Plasmakappen. Eine rasch vorübergehende Abhebung von den seitlichen Zellwänden kommt bei kurzen Zellen häufig vor. Bei tadellos gerundeten Protoplasten langer Zellen tritt häufig einige Minuten nach der Einlage in die Lösung plötzlich eine seitliche, „biskottenförmige" Eindellung in der Protoplastenmitte ein; diese Unregelmäßigkeit gleicht sich aber immer nach 30 Sekunden bis längstens einer Minute wieder aus, so daß die Messung auch an solchen Zellen zur gegebenen Zeit meist fortgeführt werden kann. Hie und da fallen anfangs eckige Plasmolyseformen auf, bei denen der sich kontrahierende Protoplast einige Sekunden eine der äußeren Zellform analoge Form annimmt. Es sind dies vor allem ältere, anscheinend schon im Streckungswachstum befindliche Zellen, die in ihrer Zellgröße eine Übergangsform zwischen kurzen, frisch geteilten und langen, sich nicht mehr streckenden Zellen einnehmen.

Die plasmolysierten Protoplasten liegen immer in der Zellmitte, nur ganz frisch geteilte Zellen, die noch durch eine sehr dünne Quermembran getrennt oder sogar noch durch einen Plasmastrang durch eine Spalte in der Querwand verbunden sind, bilden hierin eine Ausnahme. Bei diesen kann manchmal ein negativer Plasmolyseort an der jungen Querwand entstehen. Wenn noch ein verbindender Plasmafaden vorhanden war, so kann nach erfolgter Lostrennung beider Protoplasten, also nach dem Durchreißen des Plasmafadens und dem Einziehen der Plasmareste, eine mehr in der Zellmitte gelegene Plasmakugel auftreten und der negative Plasmolyseort trotz dünner Quermembran nicht ausgebildet sein. Manchmal ist eine wellige Verbiegung junger Membranen bei der Plasmolyse erkennbar.

An schon längere Zeit kultiviertem und dabei zeitweise im warmen Zimmer gestandenem Material und bei Verwendung älterer, d. h. mehr als 48 Stunden fertiggestellter und dauernd im warmen Zimmer stehender Harnstofflösungen konnten auch Beobachtungen vom Durchlaufen der letalen Stadien bis zum endgültigen Tode gemacht werden, jedoch nicht auf einen bestimmten Zelltypus beschränkt, sondern an kurzen und langen Zellen. Das

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Absterben der Zellen erfolgte manchmal einseitig von einer Querwand her durch die ganze Zelle fortschreitend, was an der zunehmenden Granulation des Protoplasten und an der zunehmenden Verquellung des Chloroplasten feststellbar war, manchmal auch von beiden Seiten mit unglaublicher Geschwindigkeit gegen das Protoplasteninnere vordringend; dabei müssen keinesfalls die benachbarten Zellen geschädigt gewesen sein, sondern die nekrotischen Zellen können ganz im Gegenteil von gesunden, tadellos konvex plasmolysierten, durch glasklares Plasma und scharfe Chloroplastenkonturen gekennzeichnete Zellen umgeben sein, die auch noch nach erfolgter Deplasmolyse am Leben bleiben. Meist allerdings schreitet in solchen Fäden die Nekrose fort, und allmählich sind große Gruppen nebeneinander liegender Zellen abgestorben. Die Dauer dieser letalen Stadien ist meist sehr kurz (sie dauern meist nur 30 Sekunden, sehr selten 8 bis 10 Minuten).

Mit einiger Sicherheit kann man schon bei Beginn der Plasmolyse nekrotische Veränderungen an dem Material feststellen; denn nur bei tadellosem Material und richtig ablaufenden Versuchen ist das Plasma glasklar durchsichtig und zeigen die Chloroplastenbänder scharfe Konturen.

Das Material, das diese Nekroseerscheinungen zeigte, wurde zu keinen weiteren Versuchen mehr verwendet, sondern es wurde neues Material vom gleichen Standort geholt und damit sofort Versuche angestellt (1. Dezember 1952).

Schon während der Versuche fiel das recht ungleichmäßige Verhalten der einzelnen Fäden auf. Die Zellen eines Fadens verhielten sich untereinander entsprechend ihrem Typus (geteilte oder erwachsene Zellen) gleichmäßig. Die Deplasmolysezeit der einzelnen Fäden war unterschiedlich, doch der Unterschied der Deplasmolysezeit zwischen kurzen und langen Zellen blieb in jedem Faden erhalten.

Im März 1953, der bereits frühlingsmäßig warm war, wurde vom gleichen Standort *Spirogyra condensata* geholt und eine Untersuchungsreihe im Frühjahr an vorwiegend jung geteilten Zellen durchgeführt. Nur wenige lange, noch ungeteilte Zellen befanden sich in diesem Material, und zwar nur in dem anfangs März geholten Spirogyrawatten.

Schon Marklund (1936) hat Änderungen des Permeabilitätstyps im Laufe des Jahres festgestellt. So permeierte Glyzerin im Sommer schneller als Harnstoff in die Epidermiszellen von *Taraxacum*, im Herbst aber erlangte Harnstoff den größeren Wert. Hofmeister (1937) untersuchte die subepidermalen Zellen der

Blattscheide von *Ranunculus repens* und stellte überraschenderweise eine völlige Veränderung der Permeabilitätsreihe während des Jahres fest. Zwischen 6. September und 5. Oktober 1931 permeierte Glyzerin 4mal rascher als Harnstoff; im Juni 1932 betrugen die Δ G-Werte für Harnstoff das 6fache der Glyzerinwerte. Im Juni zeigt *Ranunculus repens* einen klaren Harnstofftyp, im Herbst aber (September bis November) einen klaren Glyzerintyp. Erst frostgeschädigte Pflanzen des Spätherbstes gehören wieder einem starken Harnstofftypus an.

In diesem Sinne wurden nun an *Spirogyra condensata* in den ersten milden Frühjahrstagen des März 1953 Untersuchungen durchgeführt. Schon die ersten orientierenden Versuche zeigten deutlich, daß die Permeabilitätsreihe dieses Objekts sich geändert hatte und nun ein Harnstofftypus vorlag.

Da in dem ersten eingebrachten Material noch lange ungeteilte Zellen vorhanden waren, während einige Tage später, infolge warmen, schönen Frühlingswetters, fast nur mehr kurze geteilte Zellen zu finden waren, welche auch Gegenstand meiner weiteren Hauptversuche waren, sollen hier die Ergebnisse der am 4. März 1953 von der Alten Donau geholten und sogleich untersuchten langen Zellen angegeben werden[2].

Spirogyra condensata. Gestreckte Zellen.

Harnstoffversuch.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
297.	4. III., 17h 00′	0,7	15′	1—2	10′	0,492	11	
				2—3	7′	0,244		
				3—4	8′	0,112		0,283

Glyzerinversuch.

306.	4. III., 14h 50′	0,7	10′	1—2	30′	0,168	10	
				2—3	20′	0,117		
				3—4	20′	0,108		
				4—5	20′	0,085		
				5—6	30′	0,060		0,107

Methylharnstoffversuche.

304.	8. III., 16h 05′	0,8	3′	1—2	1′	1,380	4	
				2—3	2′	0,630		
				3—4	2′	0,600		0,870

[2]) Bei den folgenden Versuchen beträgt ein Mikrometerstrich = 5,6 μ.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
305a.	8. III., 16h 20′	0,8	3′	1—2	2′	0,760	3	
				2—3	2′	0,660		
				3—4	2′	0,630		0,683
325.	18. III., 16h 30′	0,8	3′	1—2	2′	1,140	3	
				2—3	2′	1,080		
				3—4	4′	0,495		0,905

Das Material scheint infolge der sofortigen Anstellung der Versuche nach dem Einsammeln durch die vorhergehende Sonnenbestrahlung stark beeinflußt zu sein, so daß die Permeabilitätswerte aller Versuche erhöht sind. Daß Sonnenbestrahlung die Permeabilitätswerte stark beeinflußt, habe ich bei Freilanduntersuchungen in Moosbrunn an *Spirogyra affinis* festgestellt. Es ist anzunehmen, daß die Werte geringer und ein den Herbstversuchen entsprechendes, ähnliches Verhältnis der Durchlässigkeit geteilter und gestreckter Zellen hergestellt gewesen wäre, wenn ich auch Messungen an einige Tage kultivierten, langen Spirogyrazellen durchgeführt hätte.

Alle anderen Versuche aber wurden an Material, das durchwegs junge, frisch geteilte Zellen enthielt, ausgeführt, so daß diese Werte denen der kurzen, herbstlichen Zellen parallel gestellt werden können.

Spirogyra condensata. Harnstoffversuche.

Lufttemperatur = um 20° C, Wassertemperatur = 16° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
297.	4. III., 17h 00′	0,7	15′	1—2	10′	0.492	12	
				2—3	7′	0,585		
				3—4	8′	0,412		0,496

Versuch an frisch gesammeltem Material, Werte daher höher.

303.	5. III., 15h 10′	0,7	10′	1—2	10′	0,312	6	
				2—3	20′	0,186		
				3—4	15′	0,186		0,224
316.	III., 10h 20′	0,7	20′	1—2	10′	0,240	10	
				2—3	10′	0,204		
				3—4	15′	0,112		
				4—5	10′	0,126		0,171

2 Zellen sind zur Zeit der 5. Messung bereits deplasmolysiert.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
320.	8. III., 14h 00′	0,8	5′	1—2	3′	0,600	6	
				2—3	5′	0,360		
				3—4	3′	0,420		
				4—5	6′	0,320		
				5—6	10′	0,144		0,368

Versuch an frisch gesammeltem Material, Werte etwas höher.

317.	9. III., 12h 20′	0,7	15′	1—2	10′	0,216	10	
				2—3	15′	0,132		
				3—4	20′	0,078		
				4—5	10′	0,108		0,163
321.	9. III., 17h 20′	0,8	10′	1—2	10′	0,168	5	
				2—3	10′	0,148		
				3—4	10′	0,174		
				4—5	15′	0,200		0,172

Die Deplasmolysezeit beträgt bei allen Versuchen durchschnittlich um 50 Minuten. Die Protoplasten heben sich in allen Versuchen zuerst eckig ab, runden sich jedoch bereits nach 1 bis 2 Minuten und besitzen sodann während der ganzen Versuchsdauer gut gerundete Plasmolyseformen.

Spirogyra condensata. Harnstoffversuche. (Vgl. Text S. 258.)
Lufttemperatur = 21° C, Wassertemperatur = 16° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
327.	18. III., 18h 00′	0,8	10′	1—2	10′	0,234	11	
				2—3	10′	0,216		
				3—4	10′	0,318		
				4—5	10′	0,270		0,259
328.	19. III., 13h 00′	0,7	10′	1—2	10′	0,204	8	
				2—3	10′	0,222		
				3—4	10′	0,288		0,238
330.	20. III., 7h 55′	0,6	5′	1—2	10′	0,168	8	
				2—3	10′	0,144		
				3—4	20′	0,102		
				4—5	20′	0,111		
				5—6	20′	0,105		0,126
331.	20. III., 9h 10′	0,6	20′	1—2	10′	0,132		
				2—3	20′	0,090		
				3—4	20′	0,138		
				4—5	20′	0,093		0,113

Der Wert ΔG_{2-3} ist zu niedrig ausgefallen. Es muß Permeabilitätshemmung oder Exosmose von Zellsaftstoffen während dieses Intervalles eingetreten sein.

Die Rückdehnungsgeschwindigkeit der einzelnen Zellen ist recht unterschiedlich, ebenso die Deplasmolysezeiten der einzelnen Versuche, die sich

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

über einen Zeitraum von 30 bis 90 Minuten erstrecken können. Daß die Δ G-Werte des ersten Messungsintervalles oft zu niedrig ausgefallen sind, beruht wohl darauf, daß der Plasmolyse-Endgrad einzelner Zellen infolge der anfangs eckigen Abhebung noch nicht erreicht war und die Permeation der entsprechenden Verbindung erst etwas später als zum Zeitpunkt der ersten Messung begonnen hat.

Am 18. März 1953 wurde wieder vom gleichen Standort *Spirogyra condensata* geholt. Prachtvolle große Watten bedeckten eine Bucht der Alten Donau. Die Plasmolyse ging aber bei weitem nicht so glatt vor sich wie bei dem bisher bearbeiteten Material. Nach der Einlage in ein Plasmolytikum traten zunächst eckige Plamolyseformen, starke seitliche Abhebung von den Zellwänden auf; nur zirka 50% der Fäden besaßen Zellen, die sich nach einigen Minuten rundeten und konvexe Formen während der Zeit der Plasmolyserückdehnung behielten. Diese Zellen mußten unter eckig abgehobenen, nur wenig und unvollständig plasmolysierten zur Untersuchung herausgesucht werden. Bei diesen nicht plasmolysierbaren Zellen quollen die Protoplasten nach einiger Zeit meist auf und bildeten eine ungeordnete, klumpige Masse in der Zelle. In den einzelnen Fäden oder zumindest in großen Fadenstücken verhielten sich die Zellen untereinander recht gleichmäßig zu einem der beiden Typen gehörig. Ich möchte hier der Vollständigkeit halber die Ergebnisse der an konvex plasmolysierbaren Zellen durchgeführten Versuche anführen.

Spirogyra condensata. Glyzerinversuche.

Lufttemperatur = 20—21° C, Wassertemperatur = 16° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
298.	4. III., 18h 10′	0,8	20′	1—2	10′	0,252	10	
				2—3	20′	0,129		
				3—4	20′	0,207		
				4—5	30′	0,180		
				5—6	60′	0,060		0,165

Versuch am Sammeltage durchgeführt; Δ G-Mittelwert doppelt so hoch als bei den folgenden Versuchen an kultiviertem Material.

306.	8. III., 14h 50′	0,7	10′	1—2	30′	0,068	10	
				2—3	20′	0,117		
				3—4	20′	0,138		
				4—5	20′	0,135		
				5—6	30′	0,100		0,112

Die ersten beiden Δ G-Werte sind zu niedrig infolge noch nicht erreichtem Plasmolyse-Endgrad einzelner Zellen zur Zeit der ersten Messung.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
319.	9. III., 15h 15′	0,8	15′	1—2	30′	0,084	10	
				2—3	30′	0,110		
				3—4	20′	0,144		
				4—5	40′	0,078		
				5—6	60′	0,051		0,093
326.	19. III., 16h 15′	0,8	15′	1—2	30′	0,094	8	
				2—3	30′	0,086		
				3—4	30′	0,080		
				4—5	30′	0,074		
				5—6	30′	0,076		0,082
332.	20. III., 10h 15′	0,6	30′	1—2	20′	0,105	13	
				2—3	20′	0,114		
				3—4	120′	0,020		
				4—5	120′	0,027		0,067

Auch die Glyzerinversuche, bei denen die Zellen innerhalb eines Fadens zwar recht gleichmäßig deplasmolysieren, zeigen große Unterschiede in der Deplasmolysezeit der einzelnen Versuche. Versuch Nr. 332 wurde an bereits 2 Tage lang kultiviertem Material durchgeführt und zeigt daher eine besonders lange Deplasmolysezeit von 5 Stunden und einen niedrigen Δ G-Mittelwert.

Spirogyra condensata. Methylharnstoffversuche.

Lufttemperatur = 20—21° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
299.	5. III.,	0,8	3′	1—2	1′	1,800	3	
				2—3	2′	1,020		
				3—4	2′	0,090		1,270
300.	5. III.,	0,8	3′	1—2	2′	1,800	5	
				2—3	3′	0,880		
				3—4	2′	1,140		1,273
304.	5. III.,	0,8	3′	1—2	1′	1,380	4	
				2—3	2′	0,630		
				3—4	2′	0,600		0,870
305.	5. III.,	0,8	3′	1—2	2′	1,320	5	
				2—3	2′	1,050		
				3—4	2′	0,990		1,120
305 a.	6. III.,	0,8	3′	1—2	2′	0,860	3	
				2—3	2′	0,660		
				3—4	2′	0,630		0,716

Da das Material dieses Versuches bereits 2 Tage im Kulturgefäß gehalten wurde, ist der Δ G-Wert dieses Versuches niedriger.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
322.	18. III.,	0,6	3′	1—2	2′	2 610	2	
				2—3	1′	2,940		
				3—4	1′	1,860		2,470
323.	18. III.,	0,8	3′	1—2	1′	2,940	3	
				2—3	1′	3,120		
				3—4	2′	1,410		
				4—5	1′	1,820		2,322

Die Ergebnisse der Versuche 322 und 323 sind deshalb höher als die Durchschnittswerte, da die Versuche sogleich nach dem Sammeln des Materials angestellt wurden.

324.	19. III.,	0,8	3′	1—2	2′	1,980	4	
				2—3	2′	2,130		
				3—4	2′	1,260		
				4—5	2′	1,590		1,740
325.	19. III.,	0,8	3′	1—2	2′	1,140	2	
				2—3	2′	1,080		
				3—4	4′	0,895		1,038

Die Deplasmolysezeiten aller Versuche betragen zwischen 8 bis 10 Minuten.

Spirogyra condensata. Malonamidversuche.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
301.	5. III., 14h 35′	0,7	15′	1—2	60′	0,019	11	
				2—3	120′	0,008		
				3—4	180′	0,004		
				4—5	12h	0,003		
				5—6	11h	0,001		0,007
302.	III., 14h 45′	0,7	25′	1—2	1h	0,034	7	
				2—3	2h	0,012		
				3—4	3h	0,006		
				4—5	12h	0,003		0,014
329.	19. III., 14h 20′	0,7	10′	1—2	40′	0,019	12	
				2—3	60′	0,033		
				3—4	60′	0,028		
				4—5	60′	0,023		
				5—6	60′	0,034		0,027

Vergleicht man diese Ergebnisse miteinander und bildet die Δ G-Mittelwerte aller Versuche ein und desselben Plasmolytikums, so erhält man folgende Permeabilitätsreihe für *Spirogyra condensata.*

Plasmolytikum	Δ G	P′	März 1953
Harnstoff	0,212	**0,263**	(Mittelwert aus 10 Versuchen, 83 Z.)
Glyzerin	0,104	**0,108**	(5 , 51 Z.)
Methylharnstoff	1,424	**1,453**	(9 31 Z.)
Malonamid	0,016	**0,018**	(3 , 30 Z.)

Harnstoff permeiert etwas mehr als 2mal so rasch als Glyzerin, Methylharnstoff nahezu 7mal rascher als Harnstoff. Zwar hat Collander (1949) hervorgehoben, daß Methylharnstoffwerte, die 6mal höher als Harnstoff liegen, im allgemeinen pathologischen Charakter tragen. Es dürfte sich in solchen Fällen meist um eine sekundäre Erhöhung der Permeabilität des Methylharnstoffes handeln. Auf diese Möglichkeit hat schon Pecksieder (1945, S. 544) hingewiesen. Da mir einige Versuche über den zeitlichen Verlauf der Permeation des Methylharnstoffes vorliegen, die in den aufeinanderfolgenden Intervallen leicht absteigende Werte aufweisen und bei denen während der Versuchszeiten jedenfalls keine Erhöhung der Durchlässigkeit stattgefunden hat, halte ich es aber für wahrscheinlich, daß meine Reihe mit dem Quotienten Methylharnstoff : Harnstoff = 6,7 : 1, doch der normalen Permeabilität zuzuordnen ist.

Das Verhältnis von Methylharnstoff : Harnstoff : Glyzerin : Malonamid ist

6,7 : 1 : 0,49 : 0,075.

Spirogyra condensata gehört also im März einem schwachen Harnstofftypus an.

Als Vergleich zu diesen Frühjahrsversuchen sollen die an herbstlichen kurzen Zellen gewonnenen Ergebnisse nochmals angeführt werden.

Harnstoff	. Δ G 0,305
Glyzerin .	. Δ G 0,293
Methylharnstoff	. Δ G 1,217

Methylharnstoff : Harnstoff : Glyzerin = 4,0 : 1 : 0,96.

Dieselbe Spirogyra, die im Herbst einen Glyzerintypus aufwies, zeigt also nun einen eindeutigen Harnstofftyp, und zwar nicht nur die vorwiegend untersuchten „jungen", frisch geteilten Zellen, sondern auch die wenigen im Material beobachteten langen Zellen.

Einen gleichsinnigen Wechsel der Permeationsreihe habe ich auch an einem anderen Objekt, *Spirogyra affinis*, feststellen können. Alle anderen, vorwiegend im Frühjahr und Sommer von

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

mir untersuchten Spirogyren (*Spirogyra Weberi, Spir. parvula* und *Spir. varians*) zeigen einen Harnstofftypus.

Wie schon vorher erwähnt, traten an dem am 18. März 1953 gesammelten Material sehr viele Zellen auf, deren Protoplasten sich auch längere Zeit nach der Einlage in das Plasmolytikum nicht rundeten, sondern dauernd eckige Plasmolyseformen aufwiesen. Als vier Wochen später, am 17. April 1953, frisches Material vom gleichen Standort gebracht wurde, waren die Zellen erstaunlicherweise unplasmolysierbar. Meist erfolgte gar kein Loslösen der Protoplasten von den Zellwänden, in manchen Zellen hob sich der Protoplast lange Zeit nach der Einlage in ein Plasmolytikum nur ganz wenig, und zwar eckig, völlig die Zellform nachahmend, ab. Da das Material am Sammeltage, also in völlig frischem Zustande, untersucht wurde, konnte doch die Beobachtung dieser Erscheinung der Unplasmolysierbarkeit nicht auf nekrotischen Veränderungen des Materials beruhen.

Schon Weber (1924, 1925) beobachtet eine Viskositätserhöhung des Plasmas kopulationsbereiter Spirogyrafäden. Bei Zentrifugierungs- und Plasmolyseformversuchen wurde diese Verfestigung des Plasmas beobachtet. Weber konnte an *Spirogyra crassa* eine Erhöhung der Plasmaviskosität an jenen Zellen feststellen, bei denen die Kopulationsschläuche bereits verwachsen waren. Diese Zellen zeigten lange oder dauernd erhalten bleibende eckige Plasmolyseformen, während in den Zellen, die nicht in Kontakt getreten sind, sich die Protoplasten rasch konvex rundeten. Bei *Spirogyra varians* hingegen zeigen die ganzen kopulationsbereiten Watten eine Verfestigung des Plasmas, auch die nicht kopulierenden Zwischenzellen, und zwar tritt diese Zustandsänderung der Protoplasten 2 Tage vor der Kopulation ein, fällt aber am Tage dieser sogleich wieder auf das normale, den vegetativen Zellen eigentümliche Maß ab. Die von Höfler (1933) auf Unterschiede des osmotischen Wertes infolge Stärkespeicherung kopulierender Zellen untersuchte *Spirogyra glabra* verhält sich ähnlich wie *Spirogyra varians*.

Meine *Spirogyra condensata* dürfte zu jener Zeit, als sie sich durch Unplasmolysierbarkeit auszeichnete, wohl auch in einem Präkopulationsstadium gestanden sein und sich in ihrem Verhalten dem Typus der *Spirogyra varians* anschließen. Kopulation konnte allerdings nicht beobachtet werden. Auffallend ist jedoch, daß gerade in jener Zeit, in der sich die meisten anderen Spirogyra-Arten zur Kopulation anschickten, die Unplasmolysierbarkeit des Materials auftrat, während Anfang März, aber auch, wie im folgenden noch ausgeführt werden wird, im Juni die Zellen tadellos

konvexe Plasmolyseformen aufwiesen. Diese Umstimmung der Protoplasten begann schon Ende März, wie bereits bei der Wiedergabe der entsprechenden Versuche erwähnt wurde, in einzelnen Zellen aufzutreten und dürfte sich bis zu einem Höhepunkt der Unplasmolysierbarkeit aller Zellen Mitte April gesteigert haben, um sodann, ohne wirklich zur Kopulation zu schreiten, in den ersten Junitagen wieder tadellos konvexe Plasmolysen sogleich nach der Einlage in das Plasmolytikum eintreten zu lassen. Aus den Beobachtungen Webers und Höflers ist zu schließen, daß die Viskositätserhöhung des Plasmas eine wichtige Vorbedingung vor Beginn der Phase der Kopulation darstellt und nur letztere aus irgendeinem Grunde bei meinem Material nicht eingetreten ist.

Am 2. Juni 1953 sammelte ich wieder *Spirogyra condensata*. Auf meinem altbewährten Standort aber gab es nur mehr üppige Cladophora-Watten. Die Spirogyra war einige 100 m entfernt nahe dem Grunde in kleineren und größeren Flocken zu finden.

Spirogyra condensata. Harnstoffversuche (geteilte, kurze Zellen).
Lufttemperatur = 21° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
390.	3. VI., 19h 10′	0,7		1—2	5′	0,816	8	
				2—3	5′	0,628		
				3—4	5′	0,324		0,569
391.	3. VI., 20h 15′	0,7		1—2	5′	0,540	10	
				2—3	5′	0,624		
				3—4	5′	0,468		0,544
392.	3. VI., 19h 45′	0,7	5′	1—2	5′	0,624	8	
				2—3	5′	0,672		
				3—4	5′	0,540		
				4—5	5′	0,300		0,543
393.	3. VI., 20h 45′	0,7	5′	1—2	5′	0,544	8	
				2—3	5′	0,564		
				3—4	5′	0,576		
				4—5	5′	0,240		0,481

Die Hälfte der Zellen dieses Versuches ist bei der vorletzten Messung bereits deplasmolysiert. Die Rückdehnung der Protoplasten der einzelnen Zellen erfolgt nicht ganz gleichmäßig. Die Deplasmolysezeiten betragen einheitlich 20 bis 25 Minuten. Es gibt keine nicht plasmolysierbaren Zellen. Nach der Einlage in ein Plasmolytikum hebt sich der Protoplast zunächst mit flachen, eckigen Menisken von den Querwänden und mit flachen, konkaven Buchten von den Seitenwänden ab, doch nach 30 bis 40 Sekunden

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

runden sich die Menisken, nach längstens einer Minute liegt der Protoplast auch seitlich den Zellwänden an. Schöne konvexe Plasmolyseformen werden während der Plasmolyse und der Rückdehnung des Protoplasten beibehalten und ermöglichen genaue Permeabilitätsmessungen.

Spirogyra condensata. Glyzerinversuche.

Lufttemperatur = 21,2° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
398.	4. VI., 8h 30′	0,7	10′	1 - 2	1h	0,060	8	
				2 - 3	3h	0,043		
				3—4	3h	0,028		
				4 – 5	1h	0,094		
				5 6	1h	0,061		0,057

Während des 3. Messungsintervalles dürfte die Permeation von Exosmose überdeckt worden sein.

399.	4. VI., 8h 50′	0,7	10′	1—2	1h	0,052	8	
				2—3	3h	0,029		
				3—4	2h	0,056		
				4—5	2h	0,044		0,045
400.	4. VI., 18h 30′	0,7	15′	1—2	1h	0,044	11	
				2—3	3h	0,033		
				3—4	2h	0,043		
				4—5	2h	0,033		
				5—6	2h	0,020		0,034
401.	4. VI., 10h 35′	0,7	10	1—2	1h	0,054	9	
				2—3	2h	0,027		
				3 – 4	2h	0,038		
				4—5	2h	0,033		0,038

Nach 7 bis 10 Stunden tritt Deplasmolyse ein.

Spirogyra condensata. Methylharnstoffversuche.

Lufttemperatur = 20°—20,5° C.

Nr.	VZ	C	Pl	M	t	Δ G	n	Δ G
394.	2. VI.,	0,7	3′	1—2	5′	2,040	3	
				2—3	2′	2,100		2,070
395.	2. VI.,	0,7	3′	1—2	5′	2,540	3	
				2 – 3	2′	1,860		2,200
396.	3. VI.,	0,7	3′	1—2	3′	1,740	5	
				2—3	2′	1,680		1,710
397.	3. VI.,	0,7	2′	1—2	2′	2,310	5	
				2—3	3′	1,300		1,805

Versuch Nr. 394 und 395 wurden noch am Sammeltag durchgeführt. Vielleicht hat die noch nachwirkende Sonnenbestrahlung diese beiden Δ G-Mittelwerte erhöht.

Das Ergebnis dieser Versuche vom Juni 1953 ist folgendes:

Permeabilitätsreihe für *Spirogyra condensata:*

Plasmolytikum	Δ G	P′
Harnstoff	0,534	0,611
Glyzerin	0,043	0,055
Methylharnstoff	1,946	2,040

Methylharnstoff permeiert 3,5mal rascher als Harnstoff, Harnstoff 12mal schneller als Glyzerin.

Methylharnstoff Harnstoff Glyzerin = 3,6 1 0,008 (Harnstoff : Glyzerin = 12,4 : 1).

Die Juniversuche an *Spirogyra condensata* zeigen, daß jetzt wieder ein starker Harnstofftypus vorliegt.

IV. Besprechung.

Weber (1930, 1933) hat als erster ungleich alte Spirogyrazellen, nämlich kurze, im Teilungswachstum und lange, im Streckungswachstum befindliche, in ihrem physiologischen Verhalten verglichen. Er hat gezeigt, daß jung geteilte Zellen Harnstoff-resistent, aber für Alkohol empfindlich, erwachsene „alte" Zellen Alkohol-resistent sind, aber durch Harnstoff getötet werden. Lange Zellen sind vor allem für lipoidunlösliche Stoffe, im Teilungswachstum befindliche kurze Zellen für lipoidlösliche Stoffe durchlässig. Diese Unterschiede zwischen den beiden Zellsorten beruhen auf ungleicher Intrabilität beziehungsweise auf ungleicher Neigung, unter dem Einfluß der gebotenen Lösungen die ursprüngliche Intrabilität pathologisch zu erhöhen. Höfler hat den Unterschied der Intrabilität der zwei Entwicklungsstadien durch Sodaeinwirkung auf *Spirogyra condensata* im Herbst 1952 bestätigt.

Es war ein Hauptziel der hier vorgelegten Versuchsreihe, festzustellen, ob mit diesen Resistenz- beziehungsweise Intrabilitätsunterschieden auch Differenzen in der Permeabilität der Zellen Hand in Hand gehen. Ich habe zu diesem Zweck *Spirogyra condensata* vom gleichen Standort, von dem Höflers Material stammte, im November 1952 und wieder im März und April 1953 und schließlich am spärlich überlebenden Material an kühleren Tagen anfangs Juni untersucht.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ich habe die ΔG-Werte für die kurzen und langen Zellen mit möglichster Genauigkeit ermittelt, denn das Material ließ die plasmometrische Messung und Ermittlung exakter Werte zu, und die Permeationskonstanten P′ sowie die auf die Oberflächeneinheit reduzierten P-Werte daraus mit tunlichster Annäherung errechnet.

Für Harnstoff, Glyzerin und Methylharnstoff ließ sich echte Permeabilität, das heißt die Fähigkeit, Stoffe von außen in den Protoplasten (Zellsaft) eindringen zu lassen, feststellen. Das Hauptergebnis dieser Versuchsreihe ist, daß die Werte für die Permeabilität zwischen „jungen" und „alten" Zellen ähnlich liegen, daß jedenfalls prinzipielle Unterschiede, wie sie für die Intrabilität erwiesen wurden, für die Permeabilität nicht bestehen.

An frisch gesammeltem Material ließen sich größere Unterschiede der Permeabilität zwischen sich teilenden und gestreckten Zellen feststellen. Am Sammeltage untersuchte kurze Zellen wiesen eine eineinhalb- bis zweimal so gute Wegsamkeit für meine Diosmotika als lange Zellen auf. In der Mehrzahl der Versuche aber blieben die Unterschiede kleiner.

Es muß angenommen werden, daß Permeabilitätsunterschiede der untersuchten Zellsorten auf Veränderungen des Plasmas der Zellen beruhen, indem diese mit zunehmendem Alter für die einzelnen Diosmotika besser durchlässig werden. Höfler (1951) nimmt für lipoidlösliche Stoffe den Durchtritt durch das Plasma über eine „zusammenhängende Phase mit lipoiden Lösungseigenschaften" an, die kontinuierlich von der Außen- bis an die Innenfläche des Plasmaschlauches reichen.

Aus den Ergebnissen der Befunde an Zellen im Teilungs- und im Streckungswachstum darf man vielleicht schließen, daß die Eigenschaften des Binnenplasmas während der Entwicklung ungefähr die gleichen bleiben, daß dagegen das Plasmalemma, vielleicht auch das Haftvermögen des Plasmas (obwohl Höfler 1951 zeigt, daß sich die ungleiche Soda-Resistenz kurzer und langer Zellen auch gegenüber hypotonischen Lösungen, die keine Plasmolyse bewirken, wiederfindet) einer Veränderung unterliegen.

Permeabilitätsunterschiede zwischen frisch gesammeltem und kultiviertem Material habe ich des öfteren auch an anderen Objekten beobachten können; immer zeigte sich eine Abnahme der Durchlässigkeit mit zunehmender Kulturdauer, die nach ungefähr 2 bis 3 Tagen stationär bleibt. El Derry (1929) hat eine Verlängerung der Plasmolysezeit mit zunehmender Kulturdauer be-

obachtet. Er versucht, diese durch Änderung des p_H des Kulturwassers zu erklären. Bode (1926) beobachtete die Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration des Kulturwassers auf die Atmung der Spirogyren. Von ausschlaggebenderer Bedeutung als die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration erscheint mir der Lichtfaktor; die Ursache der Abnahme der Permeabilität in der Kultur könnte verminderte Belichtung sein. Die Permeabilitätswerte an kultiviertem Material können bis auf die Hälfte des am Sammeltage erhaltenen Wertes absinken.

Im einzelnen hat die Verfolgung der Jahreszyklen der Permeabilität interessante und sehr klar faßbare Ergebnisse gebracht. Betrachten wir die Permeabilitätsreihen für *Spirogyra condensata* zu verschiedenen Jahreszeiten nochmals zusammenfassend:

	November—Dezember		März		April	Juni
	lange Zellen	kurze Zellen	lange Zellen	kurze Zellen		kurze Zellen
Harnstoff	0,203	0,305	0,283	0,212	unplasmolysierbar	0,534
Glyzerin	0,209	0,293	0,117	0,104		0,043
Methylharnstoff	0,874	0,217	0,819	1,424		1,946

Abb. 1 gibt in einer graphischen Darstellung ein anschauliches Bild der Permeabilitätsreihen zu verschiedenen Jahreszeiten.

Im Winter vertritt die *Spirogyra condensata* einen Glyzerintyp, im März gehört sie einem schwachen Harnstofftypus an; nachdem sie sich im April durch Unplasmolysierbarkeit auszeichnete, zeigte sie im Juni wieder einen starken Harnstofftyp. Diese Ergebnisse stimmen mit den von Hofmeister an *Ranunculus repens* gefundenen recht gut überein. Auch an anderen Objekten (*Spirogyra affinis, Cladophora glomerata*) konnte ich eine gleichsinnige Änderung der Permeabilitätsreihe im Laufe des Jahres feststellen. Es ist wahrscheinlich, daß dieser Wechsel der Permeabilitätsreihe sich bei vielen Objekten findet und diese Erscheinung sich für viele Zelltypen verallgemeinern läßt. Marklund stellte zuerst Änderungen der Permeabilitätsreihe an *Elodea* und *Taraxacum* fest. An seinen Objekten war ein Wechsel in der Größe der Porenpermeation für die Durchlässigkeit der Zellen für gelöste Stoffe maßgebend. Vergleichbare Änderungen traten bei meinem Objekt kaum hervor, es sei denn, daß der im Juni erhaltene Quotient Harnstoff : Glyzerin

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

= 12 : 1, also diese relativ starke Erhöhung der Harnstoffpermeabilität, auf einer Förderung der Porenpermeabilität beruht, was aber keineswegs bewiesen ist. Auch permeierte bei der gleichen Versuchsreihe Methylharnstoff noch 3mal schneller als Harnstoff. Sicher faßbar ist dagegen der Wechsel von Glyzerin- und Harnstoffpermeabilität. Wie ich feststellen konnte, verändern sich nicht nur die Harnstoffwerte im Laufe des Jahres, sondern viel mehr noch die Durchlässigkeit für Glyzerin; dies muß wohl zu der Annahme führen, daß es vor allem Veränderungen des Löslichkeits-

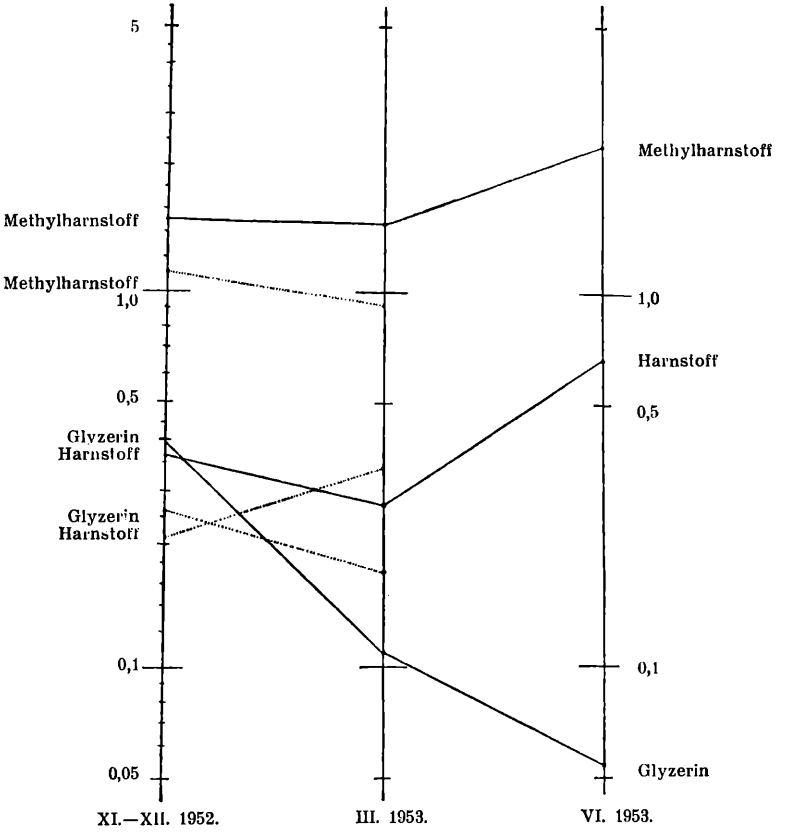

Abb. 1. Die Permeabilität von *Spirogyra condensata* zu verschiedenen Jahreszeiten.

——— geteilte Zellen } benützte Mittelwerte = P'-Werte.
gestreckte Zellen }

vermögens der Plasmalipoide sind, die diesen Wechsel der Permeationsreihe verursachen.

Einer der interessantesten Effekte, den die Beobachtung der Jahreszyklen ergeben hat, ist die Unplasmolysierbarkeit der Spirogyra im Monat April. Die Beobachtung ist um so sicherer, als die gleiche Spirogyra vorher und nachher (März und Juni) immer plasmolysierbar war. Die starke, bis zur Unplasmolysierbarkeit führende Viskositätserhöhung bei Spirogyrazellen wurde von Weber (1924, 1925) entdeckt und stand mit einer Kopulationsbereitschaft des Objektes in Zusammenhang. Auch Lloyd (1926) spricht von einer Viskositätserhöhung und Herabsetzung der Permeabilität für gelöste Stoffe kurz vor der Kopulation. Es erhebt sich die Frage, ob es sich in unserem Falle um ein Präkopulationsstadium handelt, wobei unsere *Spirogyra condensata* dem einheitlich nicht plasmolysierbaren *Spirogyra varians*-Typ Webers vergleichbar wäre; auffälligerweise konnte an dieser Spirogyra noch niemals, auch nicht in dem für das Institut seit 20 Jahren vom gleichen Standort gesammelten Material, Kopulation beobachtet werden. Dieser Effekt verdiente weiter untersucht zu werden.

V. Zusammenfassung.

1. Das Ziel der vorliegenden Versuchsreihe war, bei *Spirogyra condensata* nach Permeabilitätsänderungen im Entwicklungs- und Jahreszyklus zu suchen und sie mit den bekannten Resistenz- beziehungsweise Intrabilitätsänderungen, welche Weber (1930) zuerst beobachtet hat, zu vergleichen.

2. Die Permeabilitätsreihe für *Spirogyra condensata* wurde für Harnstoff, Glyzerin, Methylharnstoff und zum Teil auch für Malonamid als Diosmotika erstellt. Die Untersuchungen zeigten, daß keine durchgreifenden Unterschiede der Permeabilität für das Plasma von Zellen im Teilungs- und im Streckungswachstum vorliegen.

3. Als Ergebnisse der Untersuchungen im Jahreszyklus stellte sich heraus, daß *Spirogyra condensata* im Spätherbst und Winter einen Glyzerintypus aufweist, im Frühling hingegen einem Harnstofftypus angehört. An anderen Spirogyren konnte ich die gleiche Gesetzmäßigkeit nachweisen; auch an Gewebszellen ist ein solcher Wechsel der Permeabilitätsreihe bekannt. Er wurde von Hofmeister an *Ranunculus ficaria* beobachtet.

4. Im April zeichneten sich die Spirogyra-Watten durch Unplasmolysierbarkeit aus; dies ist wohl als ein Präkopulationsstadium zu deuten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Literaturverzeichnis.

Bode, H. R., 1926: Untersuchungen über die Abhängigkeit der Atmungsgröße von der Wasserstoffionen-Konzentration bei einigen Spirogyra-Arten, Jahrb. f. wiss. Bot. 65, S. 352.
Collander, R. und Bärlund, H., 1933: Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla, II., Acta bot. Fenn., Bd. 11, S. 2.
Collander, R., 1949: The permeability of plant protoplasts to small molecules, Physiologia Plantarum 2, S. 200.
Derry, B. H. el, 1929: Plasmolyseform- und Plasmolysezeit-Studien, Protoplasma 8, S. 1.
Höfler, K., 1918: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode, Ber. d. D. Bot. Ges. 36, S. 414.
— 1931: Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen, Ber. d. D. Bot. Ges. 49, S. 79.
— 1932: Zur Tonoplastenfrage, Protoplasma 15, S. 462.
— 1933: Stärkespeicherung kopulierender Spirogyren, Protoplasma 18, S. 546.
— 1934: Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von Majanthemum bifolium, Sitzungsber. d. Öst. Akad. d. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., I. Abt., Bd. 143, S. 213.
— 1937: Spezifische Permeabilitätsreihen verschiedener Zellsorten derselben Pflanze, Ber. d. D. Bot. Ges. 55, S. 133.
— 1951: Plasmolyse mit Natriumkarbonat, Protoplasma 40, S. 426.
— 1952: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten, Ber. d. D. Bot. Ges. 65, S. 391.
— 1953: Zur Frage des Plasmalemmas bei Spirogyra, Protoplasma 42, S. 334.
Höfler, K. und Stiegler, A., 1930: Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. Protoplasma 9, S. 469.
Höfler K. und Weber, F., 1926: Die Wirkung der Äthernarkose auf die Harnstoffpermeabilität von Pflanzenzellen, Jahrb. f. wiss. Bot. 65, S. 643.
Hofmeister, L., 1935: Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica 113.
— 1938: Verschiedene Permeabilitätsreihen bei einer und derselben Zellsorte von Ranunculus repens. Jahrb. f. wiss. Bot. 86, S. 401.
Krebs, J., 1952: Beiträge zur Kenntnis des Desmidiaceenprotoplasten, III. Permeabilität für Nichtleiter. Sitzungsber. d. Öst. Akad. d. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I., Bd. 161, S. 291.
Lepeschkin, W., 1909: Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe, Ber. d. D. Bot. Ges. 27, S. 129.
Lloyd, F., 1926: Maturation and conjugation in Spirogyra longata, Trans. Roy. Canad. Inst., Toronto, 15, S. 151.
— 1928: Further observations on the behavior of gametes during maturation and conjugation in Spirogyra, Protoplasma 4, S. 45.
Marklund, G., 1936: Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten, Acta bot. Fenn. 18, S. 1.
Pecksieder, E. M., 1947: Permeabilitätsstudien an Lebermoosen, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I., Bd. 156, S. 521.
Pràt, S., 1922: Plasmolyse und Permeabilität, Biochem. Zeitschr. 128, S. 557.
Ruge, U., 1943: Permeabilitätsstudien an jungen und ausdifferenzierten Zellen des Rhoeoblattes, Planta 33, S. 589.
Transeau, E. N., 1951: The Zygnemataceae, The Ohio State University Press, Columbus.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Vries, H. de, 1889: Über die Permeabilität der Protoplaste für Harnstoff, Bot. Zeitung 47, S. 309 und 325.
Weber, F., 1924: Protoplasmaviskosität kopulierender Spirogyren, Ber. d. D. Bot. Ges. 42, S. 279.
— 1925: Über die Beurteilung der Plasmaviskosität nach der Plasmolyseform, Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 42, S. 146.
— 1930: Harnstoff-Permeabilität ungleich alter Spirogyrazellen, Protoplasma 12, S. 129.
— 1931: Harnstoff-Permeabilität ungleich alter Stomatazellen, Protoplasma 14, S. 75.
— 1932: Plasmalemma oder Tonoplast? Protoplasma 15, S. 453.
— 1933: Alkohol-Resistenz ungleich alter Spirogyrazellen, Protoplasma 20, S. 15.